

## Školitelský posudek na diplomovou práci

Jméno školitele: RNDr. **Daniel Rösel**, PhD.

Autor diplomové práce: Bc. **Lucie Teglová**

Název práce: **Crosstalk of integrin and mTOR signaling**  
(Interakce integrinové a mTOR signalizace)



Lucie Teglová přišla do naší laboratoře v roce 2006. Od začátku se zapojila do vedlejšího projektu laboratoře zaměřeného na analýzu propojení integrinové a mTOR signalizace. Naše laboratoř se dlouhodobě zajímá právě integrinovou signalizací a to především úlohou kinázy Src a adaptorového proteinu p130CAS v přenosu signálu přes integriny a jejich vlivu na invazivitu nádorových buněk. mTOR je výkonnou složkou dvou multiproteinových komplexů, mTOR komplexu 1 a 2, které regulují buněčný růst a aktinový cytoskelet. V době zadání práce bylo propojení integrinové a mTOR signalizace předpokládáno a později se ukázalo, že kináza Src přímo ovlivňuje aktivitu mTOR komplexu 1.

Cílem diplomové práce Lucie Teglové bylo zjistit jakou úlohu hraje p130CAS v propojení integrinové a mTOR signalizace a zda mTOR signalizace může zpětně ovlivňovat přenos signálu přes integriny. Práce je rozdělena na dvě části. V první části Lucie sledovala vliv p130CAS na mTOR signalizaci v buňkách transformovaných aktivovaným Src. Lucie ukázala, že nadprodukce p130CAS zvyšuje bazální aktivitu obou mTOR komplexů a že pro tento efekt je nezbytná funkční substrátová doména p130CAS, ale ne SH3 doména p130CAS.

V druhé části jsme chtěli pomocí deregulace mTOR dráhy zjistit její případný vliv na integrinovou signalizaci. K tomuto účelu jsme připravily sadu mutantů v genu pro malý G-protein Rheb, který je přímým regulátorem aktivity mTOR komplexu 1. Byly připraveny 3 konstitutivně aktivní a jedna dominantně negativní varianta genu Rheb. Bohužel se ukázalo, že získat buňky stabilně exprimující příslušné mutanty Rheb proteinu je dosti obtížné. K pozitivnímu výsledku vedl až třetí přístup, založený na expresi Rheb variant fúzovaných s GFP a dvoukolové třídění GFP pozitivních buněk na průtokovém sorteru. Ani v tomto případě se však Lucii nepodařilo získat buňky stabilně exprimující dominantně negativní variantu Rheb proteinu. Lucie ukázala, že krysí fibroblasty exprimující aktivní mutanty proteinu Rheb mají zvýšenou bazální aktivitu mTOR komplexu 1, vykazují větší podíl buněk v G2/M fázi buněčného cyklu a mají zvýšenou hladinu fosforylace paxilinu, což naznačuje, že by mTOR signalizace mohla ovlivňovat signalizaci přes integriny.

V rámci své diplomové práce se Lucie naučila a využila velké množství metod molekulární a buněčné biologie. Prokázala laboratorní zručnost, schopnost samostatně provádět experimenty, kriticky je hodnotit a výsledky uvádět do širších souvislostí. Text diplomové práce je napsán dobrou angličtinou a Lucie jej připravovala velmi samostatně, bez nutnosti větších zásahů. Na základě této diplomové práce připravujeme publikaci v impaktovaném časopise typu Anticancer Research.

**Práce podle mě jednoznačně splňuje požadavky na diplomovou práci a navrhuji její přijetí.**

V Praze, 19.5.2010

Podpis školitele:

RNDr. Daniel Rösel, PhD.